



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 35/78, 7/32	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/52536 (43) Date de publication internationale: 21 octobre 1999 (21.10.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/00829 (22) Date de dépôt international: 9 avril 1999 (09.04.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/04570 10 avril 1998 (10.04.98) FR (71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): L'OREAL [FR/FR]; 14, rue Royale, F-75008 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): NONOTTE, Isabelle [FR/FR]; 12, villa Compoint, F-75017 Paris (FR). DE-SCOMBES, Caroline [FR/FR]; 105, rue des Suisses, F-92000 Nanterre (FR). BRETON, Lionel [FR/FR]; 14, rue de Satory, F-78000 Versailles (FR). (74) Mandataire: TEZIER HERMAN, Béatrice; L'Oréal/D.P.I., 6, rue Bertrand Sincholle, F-92585 Clichy Cedex (FR).		(81) Etats désignés: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>
(54) Title: USE OF AT LEAST A PLANT EXTRACT OF THE COMPOSITAE FAMILY, SUCH AS THE GENUS BELLIS (54) Titre: UTILISATION D'UN EXTRAIT D'AU MOINS UN VEGETAL DE LA FAMILLE DES COMPOSES, GENRE BELLIS (57) Abstract <p>The invention concerns the use in or for preparing a composition of at least a plant extract of the Compositae family, such as the genus Bellis as antagonist of the vasoactive intestinal peptide or V.I.P. The invention also concerns the use of said extract in or for preparing a composition, the extract or the composition being for reducing perspiration.</p> (57) Abrégé <p>L'invention a pour objet l'utilisation dans ou pour la préparation d'une composition d'au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis en tant qu'antagoniste du peptide intestinal vasoactif ou V.I.P. (Vasoactive Intestinal Peptide). L'invention a également pour objet l'utilisation dudit extrait dans ou pour la préparation d'une composition, l'extrait ou la composition étant destinés à diminuer la transpiration.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

**Utilisation d'un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés,
genre Bellis**

L'invention a pour objet l'utilisation, dans ou pour la préparation d'une
5 composition d'au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des
Composés, genre Bellis en tant qu'antagoniste du peptide intestinal vasoactif ou
V.I.P (Vasoactive Intestinal Peptide).

L'invention a également pour objet l'utilisation dudit extrait dans ou pour la
préparation d'une composition, l'extrait ou la composition étant destinés à
10 diminuer la transpiration. L'invention a enfin pour objet un procédé de traitement
cosmétique pour améliorer l'hygiène corporelle.

Le V.I.P. est un élément chimique polypeptidique élaboré et libéré par une
cellule endocrine ou par une fibre nerveuse. Le V.I.P. est composé de 28
15 acides aminés. Il fait partie de la famille de la sécrétine. L'analyse de sa
séquence révèle une forte homologie avec ce peptide ainsi qu'avec le glucagon
et le PACAP (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide).

A la périphérie, le V.I.P. est présent dans de nombreux tissus où ses fonctions
20 peuvent être diverses. Il est souvent colocalisé dans les fibres nerveuses
parasymphatiques avec l'acétylcholine où sa libération potentialise l'affinité de
l'acétylcholine pour son récepteur. Il intervient également de façon très
importante dans les échanges hydriques et électrolytiques. De nombreuses
fibres nerveuses contenant du V.I.P. sont présentes au niveau des glandes
25 salivaires.

Au niveau de la peau, des fibres nerveuses V.I.P. positives sont décrites autour
des glandes sudoripares eccrines et autour des glandes sébacées (*Br. J. of*
Dermatol. 1990, 123, 65-76 - *Japanese J. of Physiology* 1987, 3, 929-936).
30 Ainsi, des récepteurs spécifiques du V.I.P. ont été caractérisés sur les cellules
sécrétrices des glandes sudoripares eccrines humaines. Une corrélation étroite
a été rapportée entre la libération du V.I.P. par les fibres nerveuses autour des
glandes sudoripares eccrines et un effet de ce V.I.P. sur la sécrétion
sudoripare.

35 Le V.I.P. se lie à deux récepteurs, V.I.P. 1 et V.I.P. 2 (Sreedharan et al.
Biochemical and Biophysical Research Communications. 1993, vol. 2, 546-

553.) qui sont tous deux couplés à une protéine G. La fixation du V.I.P. sur l'un ou l'autre de ses récepteurs active une protéine G qui à son tour active l'adénylate cyclase. Cette dernière transforme l'Adénosine TriPhosphate (ATP) en Adénosine MonoPhosphate cyclique (AMPc) qui provoque ensuite une cascade d'événements biochimiques intracellulaires aboutissant à l'effet physiologique.

Pour qu'une substance soit reconnue comme un antagoniste du V.I.P., elle doit répondre à l'une des caractéristiques suivantes :

- la substance antagoniste doit être capable d'inhiber la formation d'adénosine 3':5'-cyclic monophosphate (AMPc) induite par la fixation du V.I.P. sur son récepteur dans des cellules en culture (comme des kératinocytes)
- la substance antagoniste doit être capable de diminuer la libération d'histamine induite par le V.I.P. lors de la dégranulation des mastocytes.

A la connaissance de la demanderesse, aucun document de l'art antérieur n'envisage ni ne suggère qu'un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis puisse avoir une activité antagoniste du V.I.P. telle que définie ci-dessus et donc puisse être notamment utilisé pour traiter les désordres indiqués ci-dessus.

Dans l'art antérieur les végétaux de la famille des Composés, genre Bellis sont connus pour être utilisés dans des compositions destinées à favoriser la pousse des cheveux (SU 488589, -SU1130347; RU2066992), dans des compositions antipelliculaires (RU2044538), dans des compositions cosmétiques sous forme de masque pour la peau (RU2038070), sous forme de crème de soin anti-inflammatoire (SU1123696, SU1799593, RU2026669, RU2026667), de crème hydratante (SU1724242, RU2026668). Aucun de ces documents ne décrit les végétaux de la famille des Composés, genre Bellis comme ingrédient actif.

Et, à la connaissance de la demanderesse l'activité antagoniste du V.I.P. que présentent les végétaux de la famille des Composés, genre Bellis n'a jamais été décrite.

La demanderesse a découvert qu'un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis répond aux caractéristiques définies comme caractérisant un antagoniste du V.I.P. et peut donc être utilisé comme

antagoniste du V.I.P..

L'invention a donc pour objet l'utilisation dans ou pour la préparation d'une composition d'une quantité efficace d'au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis* en tant qu'antagoniste du V.I.P..

L'extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis* peut être tout extrait préparé à partir de tout matériel végétal issu d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis*.

Ainsi, l'extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis* utilisé selon l'invention peut être obtenu à partir de matériel végétal issu de plante entière ou de partie de plante comme les feuilles, les tiges, les sommités florales (boutons floraux), les fleurs, les pétales, les racines ou encore des cellules indifférenciées.

Par cellules végétales indifférenciées, on entend toute cellule végétale ne présentant aucun des caractères d'une spécialisation particulière et capable de vivre par elle-même et non en dépendance avec d'autres cellules. Ces cellules végétales indifférenciées sont éventuellement aptes, sous l'effet d'une induction, à toute différenciation conforme à leur génome.

Selon la méthode de culture choisie, et en particulier selon le milieu de culture choisi, il est possible d'obtenir, à partir d'un même explant, des cellules végétales indifférenciées présentant des caractères différents.

Préférentiellement selon l'invention on utilise les sommités florales.

L'extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis* peut être tout extrait préparé à partir de tout matériel végétal issu d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis* cultivé *in vivo* ou issu de culture *in vitro*.

Par culture *in vivo* on entend toute culture de type classique c'est à dire en sol à l'air libre ou en serre, ou encore hors sol.

Par culture *in vitro*, on entend l'ensemble des techniques connues de l'homme du métier qui permet de manière artificielle l'obtention d'un végétal ou d'une

partie d'un végétal. La pression de sélection imposée par les conditions physico-chimiques lors de la croissance des cellules végétales *in vitro* permet d'obtenir un matériel végétal standardisé et disponible tout au long de l'année contrairement aux plantes cultivées *in vivo*.

5

Préférentiellement selon l'invention on utilise un végétal issu de culture *in vivo*.

Toute méthode d'extraction connue de l'homme du métier peut être utilisée pour préparer l'extrait contenu dans la composition selon l'invention.

10 On peut en particulier citer les extraits aqueux, alcooliques ou utilisant un solvant organique.

Par solvant aqueux on entend tout solvant constitué totalement ou pour part d'eau. On peut citer ainsi l'eau elle-même, les solvants hydroalcooliques en toute proportion ou encore les solvants constitués d'eau et d'un composé
15 comme le propylène glycol en toute proportion.

Parmi les solvants alcooliques on peut citer notamment l'éthanol.

On peut également utiliser un extrait préparé par la méthode décrite dans la
20 demande de brevet français n° 95-02379 déposée par la demanderesse.

Ainsi, dans une première étape on broie le matériel végétal dans une solution aqueuse à froid, dans une deuxième étape les particules en suspension sont éliminées de la solution aqueuse issue de la première étape, et dans une troisième étape on stérilise la solution aqueuse issue de la deuxième étape.

25 Cette solution aqueuse correspond à l'extrait.

D'autre part, la première étape peut avantageusement être remplacée par une opération de congélation simple des tissus végétaux (par exemple à -20°C), suivie d'une extraction aqueuse reprenant les deuxième et troisième étapes ci-dessus décrites.

30

Quel que soit le mode de préparation utilisé selon l'invention des étapes subséquentes visant à favoriser la conservation et/ou la stabilisation peuvent être ajoutées sans pour cela modifier la nature même de l'extrait. Ainsi, par exemple l'extrait obtenu peut être lyophilisé par toutes méthodes classiques de
35 lyophilisation. On obtient ainsi une poudre qui peut être utilisée directement ou bien mélanger dans un solvant approprié avant utilisation.

Préférentiellement, selon l'invention on utilise un extrait aqueux et encore plus préférentiellement un extrait réalisé avec un solvant composé d'eau et de propylène glycol, comme par exemple l'Herbasol® vendu par la société COSMETOCHEM (Grasse, France).

5

Ainsi, selon un aspect particulier, l'invention a pour objet l'utilisation dans ou pour la préparation d'une composition d'une quantité efficace d'un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis, l'extrait ou la composition étant destinés à traiter les désordres cutanés

10

Dans le domaine des désordres cutanés, on a vu précédemment qu'il est connu que des fibres nerveuses V.I.P. positives sont présentes au niveau de la peau autour des glandes sudoripares eccrines et dans une moindre mesure autour des glandes sébacées, quedes récepteurs spécifiques du V.I.P. ont été caractérisés sur les cellules sécrétrices des glandes sudoripares eccrines

15

humaines, qu'il existe une corrélation étroite entre la libération du V.I.P. par les fibres nerveuses autour des glandes sudoripares eccrines et un effet de ce V.I.P. sur la sécrétion sudoripare. Or on sait que certaines personnes présententune hypersécrétion des glandes sudoripares eccrines, ce qui peut entraîner des désagréments (excès de transpiration, mauvaises odeurs, etc.). Ainsi on comprend l'utilité de disposer de composés et/ou compositions ayant une activité antiperspirante.

20

L'extrait de végétal de la famille des Composés, genre Bellis, du fait de son activité anti-V.I.P. peut donc être utilisé pour combattre l'hypersécrétion des glandes sudoripares.

25

L'invention concerne donc plus particulièrement l'utilisation dans ou pour la préparation d'une composition d'une quantité efficace d'au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis, l'extrait ou la composition étant destinés à traiter l'hypersécrétion des glandes sudoripares.

30

La famille des Composés, genre Bellis comprend 5 espèces à savoir *Bellis annua*, *Bellis perennis*, *Bellis silvestris*, *Bellis pumila* et *Bellis pappulosa*.

35

Ainsi, l'extrait de végétal de la famille des Composés, genre Bellis de l'invention est un extrait préparé à partir de matériel issu d'au moins un végétal appartenant à une espèce choisie parmi *Bellis annua*, *Bellis perennis*, *Bellis*

silvestris, Bellis pumila et Bellis pappulosa.

Préférentiellement selon l'invention le végétal appartient à l'espèce *Bellis perennis*.

5

Selon l'invention, la quantité d'extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis* utilisée dans la composition est bien entendu fonction de l'effet recherché et peut donc varier dans une large mesure.

10 Pour donner un ordre de grandeur, l'extrait peut être en une quantité représentant de 0,001% à 20% du poids total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,01% à 10% du poids total de la composition.

15 La présente invention a également pour objet une composition pour l'hygiène corporelle comprenant une quantité efficace d'au moins un extrait de végétal de la famille des Composées, genre *Bellis*.

20 Particulièrement la composition de l'invention est une composition pour diminuer l'hypersécrétion des glandes sudoripares.

La composition de l'invention peut être une composition cosmétique ou dermatologique.

25 Préférentiellement la composition de l'invention est une composition cosmétique

La présente invention a en outre pour objet un procédé de traitement cosmétique en vue de diminuer l'hypersécrétion des glandes sudoripares, caractérisé par le fait que l'on utilise par application sur la peau, sur les cheveux, et/ou sur les muqueuses, une composition cosmétique comprenant au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis* dans un milieu cosmétiquement acceptable.

30 Par milieu cosmétiquement acceptable, on entend compatible avec la peau, le cuir chevelu, les muqueuses, les ongles, et les cheveux.

35

Le procédé de traitement cosmétique de l'invention peut être mis en œuvre notamment en appliquant les compositions hygiéniques ou cosmétiques telles

que définies ci-dessus, selon la technique d'utilisation habituelle de ces compositions. Par exemple : application de crèmes, de gels, de sérums, de lotions, de laits de démaquillage ou de compositions anti-soiaires sur la peau ou de compositions pour spray.

5

Quelque soit la forme de la composition selon l'invention, la quantité d'extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis utilisée dans la composition est bien entendu fonction de l'effet recherché et peut donc varier dans une large mesure.

10

Quelque soit la forme de la composition selon l'invention dans laquelle au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis est utilisé, celle-ci peut être ingérée ou appliquée sur la peau (sur toute zone cutanée du corps), les cheveux, les ongles ou les muqueuses (buccale, jugale, gingivale, génitale, conjonctive). Selon le mode d'administration, la composition

15

selon l'invention peut se présenter sous toutes les formes galéniques normalement utilisées.

20

Pour une application topique sur la peau, la composition peut avoir la forme notamment de solution aqueuse ou huileuse ou de dispersion du type lotion ou sérum, d'émulsions de consistance liquide ou semi-liquide du type lait, obtenues par dispersion d'une phase grasse dans une phase aqueuse (H/E) ou inversement (E/H), ou de suspensions ou émulsions de consistance molle du type crème ou gel aqueux ou anhydres, ou encore de microcapsules ou microparticules, ou de dispersions vésiculaires de type ionique et/ou non

25

ionique. Ces compositions sont préparées selon les méthodes usuelles.

30

Elles peuvent être également utilisées pour les cheveux sous forme de solutions aqueuses, alcooliques ou hydroalcooliques, ou sous forme de crèmes, de gels, d'émulsions, de mousses ou encore sous forme de compositions pour aérosol comprenant également un agent propulseur sous pression.

35

Les quantités des différents constituants des compositions selon l'invention sont celles classiquement utilisées dans les domaines considérés.

Ces compositions constituent notamment des crèmes de nettoyage, de

protection, de traitement ou de soin pour le visage, pour les mains, pour les
pieds, pour les grands plis anatomiques ou pour le corps, (par exemple crèmes
de jour, crèmes de nuit, crèmes démaquillantes, crèmes de fond de teint,
crèmes anti-solaires), des fonds de teint fluides, des laits de démaquillage, des
5 laits corporels de protection ou de soin, des laits anti-solaires, des lotions, gels
ou mousses pour le soin de la peau, comme des lotions de nettoyage, des
lotions anti-solaires, des lotions de bronzage artificiel, des compositions pour le
bain, des compositions désodorisantes comprenant un agent bactéricide, des
gels ou lotions après-rasage, des crèmes épilatoires, des compositions contre
10 les piqûres d'insectes.

Les compositions selon l'invention peuvent également consister en des
préparations solides constituant des savons ou des pains de nettoyage.

15 Les compositions peuvent aussi être conditionnées sous forme de composition
pour aérosol comprenant également un agent propulseur sous pression.

La composition selon l'invention peut aussi être une composition pour soins
capillaires, et notamment un shampoing, une lotion de mise en plis, une lotion
20 traitante, une crème ou un gel coiffant, une composition de teintures
(notamment teintures d'oxydation) éventuellement sous forme de shampoings
colorants, des lotions restructurantes pour les cheveux, une composition de
permanente (notamment une composition pour le premier temps d'une
permanente), une lotion ou un gel antichute, un shampoing antiparasitaire, etc.
25 Lorsque la composition est une émulsion, la proportion de la phase grasse peut
aller de 5 % à 80 % en poids, et de préférence de 5 % à 50 % en poids par
rapport au poids total de la composition. Les huiles, les cires, les émulsionnants
et les coémulsionnants utilisés dans la composition sous forme d'émulsion sont
choisis parmi ceux classiquement utilisés dans le domaine cosmétique.
30 L'émulsionnant et le coémulsionnant sont présents, dans la composition, en une
proportion allant de 0,3 % à 30 % en poids, et de préférence de 0,5 à 20 % en
poids par rapport au poids total de la composition. L'émulsion peut, en outre,
contenir des vésicules lipidiques.

35 Lorsque la composition est une solution ou un gel huileux, la phase grasse peut
représenter plus de 90 % du poids total de la composition.

De façon connue, la composition cosmétique peut contenir également des adjuvants habituels dans le domaine cosmétique, tels que les gélifiants hydrophiles ou lipophiles, les additifs hydrophiles ou lipophiles, les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les charges, les
5 filtres, les absorbeurs d'odeur et les matières colorantes. Les quantités de ces différents adjuvants sont celles classiquement utilisées dans le domaine cosmétique, et par exemple de 0,01 % à 10 % du poids total de la composition. Ces adjuvants, selon leur nature, peuvent être introduits dans la phase grasse, dans la phase aqueuse et/ou dans les sphérules lipidiques.

10 Comme huiles ou cires utilisables dans l'invention, on peut citer les huiles minérales (huile de vaseline), les huiles végétales (fraction liquide du beurre de karité, huile de tournesol), les huiles animales (perhydrosqualène), les huiles de synthèse (huile de Purcellin), les huiles ou cires siliconées (cyclométhicone) et
15 les huiles fluorées (perfluoropolyéthers), les cires d'abeille, de carnauba ou paraffine. On peut ajouter à ces huiles des alcools gras et des acides gras (acide stéarique).

20 Comme émulsionnants utilisables dans l'invention, on peut citer par exemple le stéarate de glycérol, le polysorbate 60 et le mélange de PEG-6/PEG-32/Glycol Stéarate vendu sous la dénomination de Tefose^R 63 par la société Gattefosse.

Comme solvants utilisables dans l'invention, on peut citer les alcools inférieurs, notamment l'éthanol et l'isopropanol, le propylène glycol.

25 Comme gélifiants hydrophiles utilisables dans l'invention, on peut citer les polymères carboxyviniliques (carbomer), les copolymères acryliques tels que les copolymères d'acrylates/alkylacrylates, les polyacrylamides, les polysaccharides tels que l'hydroxypropylcellulose, les gommes naturelles et les
30 argiles, et, comme gélifiants lipophiles, on peut citer les argiles modifiées comme les bentones, les sels métalliques d'acides gras comme les stéarates d'aluminium et la silice hydrophobe, éthylcellulose, polyéthylène.

35 La composition peut contenir d'autres actifs hydrophiles comme les protéines ou les hydrolysats de protéine, les acides aminés, les polyols, l'urée, l'allantoïne, les sucres et les dérivés de sucre, les vitamines hydrosolubles, les extraits végétaux et les hydroxy-acides.

Comme actifs lipophiles, on peut utiliser le rétinol (vitamine A) et ses dérivés, le tocophérol (vitamine E) et ses dérivés, les acides gras essentiels, les céramides, les huiles essentielles, l'acide salicylique et ses dérivés.

5

Selon l'invention la composition peut associer au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis à d'autres agents actifs destinés notamment à la prévention et/ou au traitement des affections cutanées. Parmi ces agents actifs, on peut citer à titre d'exemple :

- 10 - les agents modulant la différenciation et/ou la prolifération et/ou la pigmentation cutanée tels que l'acide rétinoïque et ses isomères, le rétinol et ses esters, la vitamine D et ses dérivés, les oestrogènes tels que l'oestradiol, l'acide kojique ou l'hydroquinone ;
- les antibactériens tels que le phosphate de clindamycine, l'érythromycine ou
15 les antibiotiques de la classe des tétracyclines ;
- les antiparasitaires, en particulier le métronidazole, le crotamiton ou les pyréthrinoides ;
- les antifongiques, en particulier les composés appartenant à la classe des imidazoles tels que l'éconazole, le kétoconazole ou le miconazole ou leurs sels,
20 les composés polyènes, tels que l'amphotéricine B, les composés de la famille des allylamine, tels que la terbinafine, ou encore l'octopirox ;
- les agents anti-inflammatoires, particulièrement non-stéroïdiens tels que l'ibuprofène et ses sels, le diclofénac et ses sels, l'acide acétylsalicylique, l'acétaminophène ou l'acide glycyrrhétinique ;
- 25 - les agents kératolytiques tels que les acides alpha- et bêta-hydroxycarboxyliques ou bêta-cétocarboxyliques, leurs sels, amides ou esters et plus particulièrement les hydroxyacides tels que l'acide glycolique, l'acide lactique, l'acide salicylique, l'acide citrique et de manière générale les acides de fruits, et l'acide n-octanoyl-5-salicylique ;
- 30 - les agents anti-radicaux libres, tels que l'alpha-tocophérol ou ses esters, les superoxyde dismutases, certains chélatants de métaux ou l'acide ascorbique et ses esters ;
- les antiséborrhéiques ;
- les antipelliculaires comme l'octopirox ou la pyrithione de zinc ;
- 35 - les antiacnéiques comme l'acide rétinoïque ou le peroxyde de benzoyle ;
- les extraits végétaux ou d'origine microbienne.

Les exemples et compositions suivants illustrent l'invention sans la limiter aucunement. Dans les compositions les proportions indiquées sont des pourcentages en poids.

5 Exemple 1 :

Préparation d'un extrait de *Bellis perennis* :

100 g de fleurs séchées de *Bellis perennis* sont broyées dans un broyeur à fléau, équipé d'un tamis de 1 mm de diamètre. Ces 100 g de broyat sont ensuite
10 mis à macérer dans 1 litre d'eau déminéralisée pendant 15 minutes à 4°C. (bain de glace). La préparation ainsi obtenue est filtrée à 0,22 µm (filtration stérilisante).

L'extrait ainsi préparé est conservé à 4°C. L'extrait obtenu peut être lyophilisé.

Le traitement à froid permet de geler les activités enzymatiques, la filtration
15 stérilisante évite la dégradation des actifs par les micro-organismes de l'environnement. Enfin, le véhicule eau facilite les formulations cosmétiques.

Exemple 2 : Activité biologique d'un extrait de *Bellis perennis* :

20 1) Test d'affinité réceptorielle :

Ce test est réalisé sur des cellules de la lignée HT-29 (adénocarcinome de colon humain) (Biochem. J., 1985, vol.231, p 139-143). Les cellules sont ensemencées à 40000 cellules/cm² en flacon de 25 cm² en milieu DMEM (vendu par la société Gibco BRL) contenant 10% de sérum de veau foetal et incubées
25 à 37°C en atmosphère CO₂/air (1:9). Les cellules sont récupérées après 4 à 5 jours (en phase exponentielle de croissance) à l'aide d'une solution saline 0.13 M phosphate pH 7,2 contenant 3 mM d'EDTA. Elles sont centrifugées à 2000 g pendant 5 min à 4°C. Le culot est repris par un tampon Hepes 5 mM hypo-osmotique à pH 7,5. Après 15 min. dans la glace, la suspension est
30 homogénéisée. L'homogénat est alors centrifugé à 30000 g pendant 10 min.. Le culot est lavé trois fois avec un tampon Hepes 60 mM pH7,5. La préparation membranaire ainsi obtenue est conservée à -80°C; les protéines sont dosées selon la méthode de Bradford (avec la BSA comme standard).

35 Le test consiste à incuber la préparation membranaire précédente (environ 100 µg/ml) pendant 60 minutes à 30°C en présence de ¹²⁵I-V.I.P. (et autres composés si nécessaire) en tampon Hepes 60 mM pH 7,5 contenant 2% de

sérum albumine bovine et 0,1% de bacitracine. La réaction est stoppée en transférant le milieu d'incubation dans du tampon froid. Le V.I.P. radioactif lié à la préparation membranaire est ensuite séparé par centrifugation à 30000 g pendant 10 min à 4°C puis la radioactivité est mesurée au moyen d'un

5 compteur à scintillation.

La mesure de l'affinité réceptorielle de l'extrait de *Bellis perennis* pour le récepteur au V.I.P. est mise en évidence en ajoutant dans le milieu d'incubation des doses croissantes de l'extrait.

- 10 Les valeurs décroissantes de radioactivité mesurée sont le reflet d'une compétition sur le récepteur entre le ligand naturel radiomarké, ^{125}I -V.I.P., et l'extrait de *Bellis perennis*.

L'extrait de l'exemple 1 (à 10% de sommités florales broyées par volume d'eau équivalent) et un extrait commercial dénommé Herbasol® vendu par la société COSMETOCHEM (à 5% de somités florales broyées par volume de mélange propylèneglycole/eau/phenonix) ont été testés en parallèle.

Les valeurs d'IC50 (concentration inhibant 50% de la liaison spécifique du ligand naturel pour son recepteur) obtenue avec les deux extraits sont

20 présentées dans le tableau ci-dessous

	IC50
Extrait Herbasol® de <i>Bellis perennis</i>	1,2
Extrait aqueux de <i>Bellis perennis</i>	2,8

Ces résultats mettent clairement en évidence une affinité de l'extrait de *Bellis perennis*, quelque soit sont mode de préparation pour le récepteur au V.I.P.

25

2) Mesure de l'augmentation du taux d'AMPcyclique (AMPc) induit par le V.I.P. : effet d'un extrait de *Bellis perennis*.

Ce test est réalisé sur des cultures primaires de kératinocytes issus des

30 cellules glandulaires. Les cellules sont cultivées en milieu KGM (Keratinocytes Growth Medium) à 37°C en atmosphère contenant 5% de CO₂. Elles sontensemencées à 20000 cellules/cm² en plaques de 24 puits et utilisées entre 3 et 7 jours après l'ensemencement.

Le test consiste à incuber les cellules dans le milieu de culture habituel pendant 30 min à 37°C en présence de V.I.P. (et/ou d'autres composés) et d'un agent bloquant la dégradation d'AMPc tel que l'3-isobutyl-1-méthylxanthine (IBMX). La réaction est stoppée par addition d'acide perchlorique (70%, 11N) et l'AMPc produit est mesuré dans le surnageant par une méthode immunoenzymatique (kit Amersham cAMP EIA System RPN 225). Le dosage est basé sur la compétition entre l'AMPc produit par les cellules et une quantité donnée d'AMPc couplé à la peroxydase, pour un nombre limité de sites de liaison AMPc. La quantité d'AMPc couplée à la peroxydase liée aux sites est révélée par addition d'un substrat (tetramethylbenzidine hydrogen peroxyde) et mesurée par lecture spectrophotométrique. La quantité d'AMPc à doser dans le surnageant de culture sera donc inversement proportionnelle à la quantité d'AMPc couplé à la peroxydase ainsi mesurée.

Ce test complémentaire du test d'affinité permet de mettre en évidence non seulement une compétition entre le V.I.P. et l'échantillon à tester pour le récepteur au V.I.P., mais également un effet agoniste ou antagoniste.

L'extrait de l'exemple 1 et un extrait commercial dénommé Herbasol® vendu par la société COSMETOCHEM's ont été testés dans 2 expériences en parallèle.

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la liaison spécifique du ligand naturel.

	pmole d'AMPc/10000 cellules
Milieu de culture	7,4
V.I.P. (10^{-6} M)	25,6
V.I.P. (10^{-6} M) + Herbasol® de <i>Bellis perrenis</i> (à 10% de matière sèche)	5,8

	pmole d'AMPc/10000 cellules
Milieu de culture	1,08
V.I.P. (10^{-6} M)	10,51
V.I.P. (10^{-6} M) + extrait aqueux de <i>Bellis perrenis</i> (à 5% de matière sèche)(exemple 1)	4,27

Ces résultats démontrent que l'extrait de *Bellis perrenis*, quelque soit son mode de préparation, agit comme un antagoniste du V.I.P..

5

Exemple 3 :

Exemples de compositions comprenant au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis* illustrant l'invention. Ces compositions, sauf indication contraire sont obtenues par simple mélange des divers ingrédients :

10

Composition 1 : Crème antitranspirante aqueuse (huile/eau) (nomenclature CTFA)

Phase A : grasse

- | | | | |
|----|--|------|---|
| 15 | - Alcool cétéarylique (corps gras, gélifiant) | 4,00 | % |
| | - Stéarate de glycérol (corps gras, gélifiant) | 2,50 | % |
| | - Steareth-25 (émulsionnant) | 1,05 | % |
| | - Alcool stéarylique (corps gras, gélifiant) | 1,05 | % |
| | - Cétéareth-33 (émulsionnant) | 1,00 | % |
| 20 | - Diméthicone | 1,00 | % |
| | - Céteth-20 (émulsionnant) | 0,40 | % |
| | - Conservateur | qs | |

Phase B : aqueuse

- | | | | |
|----|---------------------------------------|---------|---|
| | - Herbasol® de <i>Bellis perrenis</i> | 5,00 | % |
| 25 | - Conservateur | qs | |
| | - Eau | qsp 100 | % |

Phase C :

- | | | |
|--|---------------|----|
| | - Parfum | qs |
| | - Bactéricide | qs |

30 Phase D :

- | | | | |
|--|--------|------|---|
| | - Talc | 1,00 | % |
|--|--------|------|---|

Mode opératoire : Chauffer la phase B à 70-80 °C, sous agitation. Chauffer la phase A à 70-80 °C. Lorsque les deux phases sont bien homogènes, incorporer A dans B, sous agitation forte pendant 10 min. Refroidir sous agitation plus faible. A 45 °C, ajouter la phase C prémélangée. Agiter fortement pendant 5 min. Refroidir sous agitation plus faible. Vers 30 °C, incorporer lentement la phase D. Poursuivre le refroidissement jusqu'à la température ambiante.

On obtient une crème souple et douce, à effet poudré à l'étalement procurant une protection efficace contre la transpiration.

Composition 2 : Crème anhydre antitranspirante (nomenclature CTFA)

Phase A :

- Stearalkonium hectorite (gélifiant)	4,20	%
- Propylène carbonate (agent de mise en suspension)	1,40	%
- Caprylic/Capric Triglycerides	29,40	%
- Diméthicone	5,00	%
- Isohexadecane (solvant)	qsp 100	%

Phase B :

- Herbasol® de <i>Bellis perrenis</i>	3,00	%
- Talc	1,00	%

Phase C :

- Parfum	qsp	
----------	-----	--

Phase D :

- Talc	6,00	%
--------	------	---

Mode opératoire : Mélanger les composés de la phase A à température ambiante. Incorporer ensuite la phase C, toujours à température ambiante.

Lorsque tout est homogène, incorporer B et D lentement.

La crème obtenue est particulièrement douce, non grasse, non collante, et procure par son impact sec, une sensation de plus grande sécurité contre l'humidité axillaire.

Composition 3 : Aérosol (nomenclature CTFA)

Phase A :

	- Cyclométhicone	qsp 100	%
	- Quaternium-18 bentonite	3,00	%
	- Triéthylcitrate	7,00	%
	- Diméthiconol	1,40	%
5	- Isopropyl palmitate	6,00	%

Phase B :

	- Herbasol® de <i>Bellis perrenis</i>	5,00	%
--	---------------------------------------	------	---

Phase C :

	- Talc	1,50	%
--	--------	------	---

10

Mode opératoire : Mélanger les ingrédients de la phase A à froid. Ajouter lentement le chlorohydrate d'aluminium, puis le talc. Mélanger vigoureusement pour obtenir une suspension homogène. Cette dernière peut ensuite être pressurisée de la façon suivante : 13 % de jus, 87 % de gaz comprimé ou

15

Le jus délivré laisse un impact doux, poudré sur la peau assurant la protection contre la transpiration.

20 Composition 4 : Poudre compactée

	- Chlorure de magnésium (antitranspirant)	5,00	%
	- Kaolin	10,00	%
	- Herbasol® de <i>Bellis perrenis</i>	5,00	%
	- Parfum	0,30	%
25	- Talc	qsp 100	%

Composition 5 : Stick déodorant

	- Herbasol® de <i>Bellis perrenis</i>	8,00	%
	- Alcool stéarylique	24,00	%
30	- Distéarate de PEG-400	6,00	%
	- Cire hydrocarbonnée	4,00	%
	- Cyclométhicone	46,00	%

REVENDEICATIONS

1. Utilisation dans ou pour la préparation d'une composition, d'une quantité efficace d'au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis en tant qu'antagoniste du V.I.P..
5
2. Utilisation dans ou pour la préparation d'une composition, d'une quantité efficace d'au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis, l'extrait ou la composition étant destinés à traiter les désordres cutanés.
10
3. Utilisation dans ou pour la préparation d'une composition d'une quantité efficace d'au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis, l'extrait ou la composition étant destinés à traiter l'hypersécrétion des glandes sudoripares.
15
4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée par le fait que l'extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis est obtenu à partir de matériel végétal issu de plante entière ou de feuilles, de tiges, de fleurs, de pétales, de racines ou encore de cellules indifférenciées.
20
5. Utilisation selon la revendication 4, caractérisée par le fait que l'extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis est obtenu à partir de sommités florales (boutons floraux).
25
6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée par le fait que l'extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis est obtenu à partir de matériel végétal issu d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis cultivé *in vivo*.
30
7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée par le fait que dans la composition l'extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre Bellis est en une quantité représentant de 0,001% à 20% du poids total de la composition et préférentiellement en une quantité représentant de 0,05% à 10% du poids total de la composition.
35

8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisée par le fait que l'extrait est un extrait préparé à partir de matériel issu d'au moins un végétal appartenant à une espèce choisie parmi *Bellis annua*, *Bellis perennis*, *Bellis silvestris*, *Bellis pumila* et *Bellis pappulosa*.

5

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisée par le fait que le végétal appartient à l'espèce *Bellis perennis*.

10

10. Composition pour l'hygiène corporelle comprenant une quantité efficace d'au moins un extrait de végétal de la famille des Composées, genre *Bellis* tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9.

15

11. Composition selon la revendication précédente, caractérisée par le fait qu'elle est destinée à diminuer l'hypersécrétion des glandes sudoripares.

20

12. Procédé de traitement cosmétique en vue de diminuer l'hypersécrétion des glandes sudoripares, caractérisé par le fait que l'on utilise par application sur la peau, sur les cheveux, et/ou sur les muqueuses, une composition cosmétique comprenant au moins un extrait d'au moins un végétal de la famille des Composés, genre *Bellis* dans un milieu cosmétiquement acceptable.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/00829

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 A61K35/78 A61K7/32

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 42 06 233 C (SCHAPER & BRÜMMER GMBH & CO) 4 March 1993 see page 2, line 3 - line 34 ---	1-13
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9718 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 97-200615 XP002087812 & RU 2 066 191 C (VOLVICH V I) , 10 September 1996 see abstract -----	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 June 1999

Date of mailing of the international search report

02/07/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rempp, G

Information on patent family members

PCT/FR 99/00829

Patent document
cited in search report

Publication
date

Patent family member(s)

Publication date

DE 4206233	C	04-03-1993	NONE
------------	---	------------	------

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De l'Office Internationale No
PCT/FR 99/00829

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 A61K35/78 A61K7/32

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	DE 42 06 233 C (SCHAPER & BRÜMMER GMBH & CO) 4 mars 1993 voir page 2, ligne 3 - ligne 34 ---	1-13
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9718 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 97-200615 XP002087812 & RU 2 066 191 C (VOLVICH V I) , 10 septembre 1996 voir abrégé -----	1-13

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document délimitant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

24 juin 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

02/07/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Rempp, G

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dr. de Internationale No

PCT/FR 99/00829

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
DE 4206233 C	04-03-1993	AUCUN	